Rev. CO001011

セミ分取用トヨパール充てんカラム

TOYOPEARLPAK®（ガラスカラム）

# 取扱説明書

# ご使用の前に

- この製品を使用する前に，必ずこの取扱説明書をよく読んで理解してください.
- この取扱説明書は，いつも手元においてご使用ください.
- 製品本来の使用方法及び取扱説明書で指定した使用方法を守ってください.
- この取扱説明書の安全に関する指示に対しては，指示内容を理解の上，必ず従ってください.

以上の指示を厳守してください.
指示に従わないと，けがや事故の恐れがあります.

**【取扱説明書について】**

- 取扱説明書の内容は，製品の性能・機能の向上により将来予告なしに変更することがあります.
- 取扱説明書の全部又は一部を無断で転載，複製することは禁止しています.
- 取扱説明書を紛失したときは，弊社営業担当者までお問合せください.
- 取扱説明書の内容に関しては万全を期していますが，万一不審な点や誤り，記載漏れに気づいたときは，お手数ですが巻末の連絡先までご連絡ください.

## 安全上のご注意

- ご使用の前に，この“安全上のご注意”をよくお読みのうえ，正しくお使いください．
- この項目は，いずれも安全に関する内容ですので，必ず守ってください．
- “警告”“注意”の意味は次のようになっています．

| | |
|---|---|
| ⚠ 警告 | 回避しないと，死亡又は重傷を招く可能性がある状況を示します． |
| ⚠ 注意 | 回避しないと，軽傷を負うか又は物的損害が発生する危険な状況を示します． |

### ご使用時

| ⚠ 警告 |
|---|
| **• 火気厳禁**<br>• 引火性のある溶媒を使用する場合，火気の使用は厳禁です．火災，爆発の原因になります． |

| ⚠ 注意 |
|---|
| **• 換気に注意を**<br>• 引火性，毒性のある溶媒を使用する場合，十分換気をしないと火災，爆発，中毒の原因になります． |
| **• 液漏れに注意を**<br>• 溶媒などの液漏れは，感電，中毒，薬傷，火災，腐食などの原因になります．液漏れの場合は，適切な保護具を着用し，液を取り除いてください． |

## ⚠ 注意

- **保護具の着用を**
  - 有機溶媒や酸などの溶離液を取扱う場合は，保護メガネ，手袋などの保護具をご使用ください．薬傷を負う恐れがあります．

- **取扱いに注意を**
  - 取扱いが不適切であると，カラムの性能を損なうことがあります．取扱いには十分注意してください．

- **適切な使用方法を**
  - このカラムは分離，精製などに用いるもので，それ以外の目的には使用しないでください．

- **圧力に注意を**
  - 急激な圧力上昇は，カラムの性能を損なう原因になります．また，カラム材質により破裂，飛散などの可能性があります．規定以上の圧力にならないようにご注意ください．適切な保護具を着用し，十分注意して作業を行ってください．

- **分離精製物の取扱いに注意を**
  - 得られた分離精製物又は精製溶液を製品及び中間体として使用する場合は，十分にその安全性の確認を行ってご使用ください．

- **処分には適切な処置を**
  - 廃棄する場合は，産業廃棄物として適切な処置を行ってください．

## 取扱い上のご注意（出荷溶媒に関する注意）

| | | |
|---|---|---|
| 応急処置 | 眼に入った場合 | • 直ちに清浄な水で15 分以上洗眼する．その際は瞼を開き水が全面にゆきわたるように行う．<br>• 速やかに医師の手当てを受ける． |
| | 皮膚に付着した場合 | • 水などで洗い流す． |
| | 飲み込んだ場合 | • 口腔を水洗し，医師の手当てを受ける． |
| 取扱い及び保管上の注意 | 身入り容器の取扱い | • 容器は破損につながる粗暴な取扱いをしない． |
| | 保護具の着用と身体の洗浄 | • 取扱いの際はゴム製手袋，保護メガネを着用する．<br>• 身体に付着した場合には，水で洗い流す． |
| | 保管温度条件 | • ０℃付近で凍結することがあるので保管温度に注意する． |

□出荷溶媒：イオン交換水

## 取扱い上のご注意（充てん剤に関する注意）

| | | |
|---|---|---|
| 応急処置 | 眼に入った場合 | • 直ちに清浄な水で15 分以上洗眼する．その際は瞼を開き水が全面にゆきわたるように行う．<br>• 速やかに医師の手当てを受ける． |
| | 皮膚に付着した場合 | • 水などで洗い流す． |
| | 飲み込んだ場合 | • 口腔を水洗し，医師の手当てを受ける． |
| 取扱い及び保管上の注意 | 取扱い時の保護具と身体の洗浄 | • 取扱いの際はゴム製手袋，保護メガネを着用する．<br>• 身体に付着した場合には，水で洗い流す． |
| 廃棄上の注意 | 処分方法 | • 廃棄する場合は焼却設備などで少量ずつ焼却処分を行う． |
| | 一般的な留意事項など | • 処分作業は可燃物の取扱い及び保管上の注意事項に留意して行う． |
| | 処分上の注意 | • 焼却処分する場合 DEAE-TOYOPEARLPAK® 650S 及び 650M は窒素酸化物ガス，SP-TOYOPEARLPAK® 650S 及び 650M は硫黄化合物ガスを発生するので排ガス対策を行う． |

□充てん剤：可燃性充てん剤（ビニル共重合物）

# 目　次

2009 年 6 月改訂
2007 年 12 月改訂

## 1. はじめに

TOYOPEARLPAK®（ガラスカラム）は，工業用又は中速液体クロマトグラフィー（FFLC）用に開発された充てん剤であるTOYOPEARL®イオン交換クロマトグラフィー用充てん剤（IEC Type），疎水クロマトグラフィー用充てん剤（HIC Type）をガラスカラムに充てんしたカラムです．このカラムは実験室での分取及び大規模な分離精製を行うための検討用に最適です．

このカラムの性能を発揮させるために，この取扱説明書をご熟読の上，正しくご使用ください．

## 2. ご使用の前に

まず，こん包状態及びカラムの外観に異常がないかお確かめください．

つぎに, カラムと一緒に次の部品及び書類が入っておりますのでご確認ください．

FPLC 用アダプタ ……………………………… 2 個
取扱説明書 ……………………………………… 1 通
検査票（INSPECTION DATA）……………… 1 通

正常なカラムでもカラム内のゲルにひび割れがあるように見えることがあります．後述する理論段数の測定を行って異常がなければ, 性能的には全く問題ありません．

## 3. カラム各部の名称

エンプティカラムはガラスカラムと樹脂製エンドフィッティングとから構成されています．
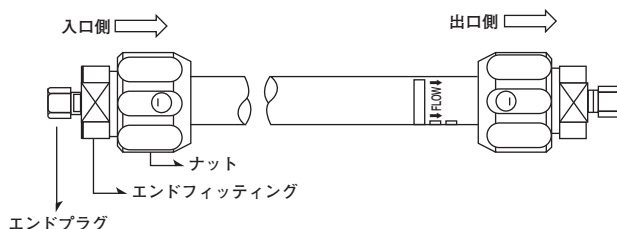
**図 1 カラムの見取図**

接続は一般的に使われている 1/4-28UNF フランジ型ジョイントで行います．

## 4. 装置への接続と注意事項

### 4−1　カラム部品の接続方式

カラムとの接続は，フレアフィットタイプ（1/4−28UNF）のねじ込み式となっています．

装置の接続がフレアフィットタイプ以外であれば，カラムとの接続部品を用意してください．また，装置の接続がファルマシアタイプのフレアフィット（M6）の場合には，ねじ山のピッチが異なりますので，附属の FPLC 用アダプタを用いて接続するようにしてください．

### 4−2　カラムの通液方向

**図 1** に示したネームプレートの Flow の矢印方向でご使用ください．逆方向に長時間液を流しますと，カラムの性能低下をまねきます．

### 4−3　フレアフィットアダプタの締め付け方法

カラムに接続する際には，手締めで固定してください．液漏れがある場合にはスパナなどで軽く漏れが止まるまで増締めしてください．強く締めすぎますと液が流れなくなり，カラムエンド部分が破損する恐れがあります．

### 4−4　気泡の混入防止

カラムを装置にセットする際又は取りはずす際には，カラム内に空気を入れないよう十分注意を払い，必ず装置の全配管系の気泡を除いた後，カラムを装置にセットしてください．

カラム内に気泡を入れますとチャネリングなどにより性能低下を引き起こします．カラムを長時間使用しない場合は，**4−7−4** 項を参考にして保存してください．

### 4−5　装置への接続

まず，両端のエンドプラグを取りはずします．つぎに，出口側カラムエンドに装置送液配管を接続し，送液ポンプにより溶媒を送り，逆流しによって入口側カラムエンド付近の気泡を溶媒で押し出してください（この際，急激な加圧，又は送液は，カラムの性能が低下しますので，溶媒は**表 1** に示す最大圧力以下となる流速で送り込んでください）．

このようにして入口側カラムエンドより気泡が出ないこと及び溶媒がにじみ出ることを確かめた後，正常な通液方向に接続してください．

なお，接続する検出器によっては，配管抵抗によるカラム背圧力が高くなることがありますので分取用のセルに交換するか流速を下げてご使用ください．

分取用の検出器でも配管の内径が小さいときは，カラム背圧力が高くなることがありますのでご注意ください．

### 4－6　操作開始前

カラムを接続後，操作を開始しますが，送液開始の際，急激な加圧はカラムの性能低下を招きますので避けてください．特に急激な圧力の立上がりを起こす送液ポンプは使用しないでください．

HPLC 用の測定システムに接続する場合には，まずカラムを接続せずにバイパスさせて直接検出器に接続し，予定使用流速でどの程度圧力がかかるかを調べてください．圧力が約 1.0 MPa 以上となる場合は，使用流速を下げる必要があります．

### 4－7　操作終了後

操作終了時は，ポンプが止まり，液の流出が完全に停止するまでは装置，カラム及び検出器の接続部をはずさないでください．送液が停止しないうちに装置からカラムをはずしますと急激な圧力変動がカラムにかかり，カラムの性能劣化の原因となります．

#### 4－7－1　操作が終了し，翌日も同一カラム系で使用する場合

全配管系の漏れがなければ，装置にカラムをセットしたままで，翌日使用しても問題ありません．ただし，次の使用まで 3 日以上ある場合には以下の操作を行い，カラムを保管してください．

カラムの保管の際には，なるべく一定温度で凍結の恐れのないところで保管してください．

#### 4－7－2　塩水溶液の置換

全配管系を脱気した蒸留水又はイオン交換水で十分洗浄してください．洗浄の流速は，1.0 mL/min 以下で，洗浄に要する液量は，カラム容積分と配管系とを置換するために必要な量以上（カラム容積の 3 倍以上）の置換を行ってください．

#### 4－7－3　短期保存の場合（3 日～ 1 週間）

再使用までの期間が比較的短い場合には脱気した蒸留水に置換後，カラムと検出器との接続をはずし，フレアフィットアダプタを付けた接続チューブを出口側エンドに取り付け，蒸留水を送液します．チューブから蒸留水が流れ出せば，ポンプを止め，カラムを送液システムからはずし，カラム両末端をカラム納入時と同じようにエンドプラグを使って完全に封をしてください．

#### 4－7－4　長期保存の場合

再使用までの時間が長期にわたる場合には，カラム各シール部分からの蒸留水の漏れによってカラム内に気泡が混入する恐れがあります．**4－7－3** 項の方法で完全

に封をした後，定期的にカラム表面の観察を行い，カラム内への空気の混入を防いでください．乾燥を防止するため少なくとも 1 ヵ月に 1 度はカラムに通液をして保管するか，バットのような容器に水を入れて，カラムを水中で保管してください．

## 5. 溶媒の選択

カラムはイオン交換水溶媒で出荷されています．使用溶媒に置換する場合の流速は，1 mL/min 程度で行ってください．頻繁な溶媒交換はカラム性能低下をきたすことがあります．できるだけ同一種類の溶媒をご使用ください．

### 5－1　使用可能な pH 範囲

pH 2.0－12.0 の範囲内の pH でご使用ください．

### 5－2　溶媒選択の注意事項

#### 5－2－1　溶媒の粘度

粘度の高い溶媒を用いるときは，圧力損失が大きくなり，カラムの劣化原因となりますので，流速は**表 1** に示す最大圧力を超えないように低めに設定してください．

#### 5－2－2　溶媒中の不純物

ゴーストピークの原因となりますので，溶媒はできるだけ純度の高い試薬を用いて調製してください．

#### 5－2－3　試料の溶解

試料が完全に溶解する溶媒を選択してください．試料が完全に溶解していないものを注入すると，配管内及びカラム内でのつまり，充てん剤及びカラム性能の劣化原因となります．

#### 5－2－4　脱気操作

脱気が不十分で気泡が発生しカラムに混入した場合，カラム劣化の原因となる恐れがありますので溶離液は十分に脱気を行ってください．カラム内でわずかな量の気泡が発生した場合には十分に脱気した溶媒（蒸留水）を流すことで回復します．

#### 5－2－5　有機溶媒の添加

水溶性有機溶媒の添加が可能です．

水溶性有機溶媒添加量は 20 %以下でご使用ください．

## 6. 使用流速

使用流速は，分離能，測定時間及びカラムの耐久性などを考慮して選択します．流速が早いほど測定に要する時間は短くなりますが，トップオフ現象（カラムの液入口側にすき間の空く現象）の危険を伴います．カラムの耐久性の面からは流速の低いほうが好ましいといえます．

**表 1** に示した適正流速でご使用ください．最大流速以上，最大圧力以上でのご使用は避けてください．また適正流速はあくまでも 25 ℃蒸留水を基準としていますので使用温度，溶媒による粘度変化に応じて変更することが必要です．

**表 1　使用流速**

| 品　　名 | カラムサイズ (mmID×cm) | 適正流速 (mL/min) | 最大流速 (mL/min) | 最大圧力 (MPa) |
|---|---|---|---|---|
| DEAE-650S | 8.0×7.5 | 0.5-1.5 | 2.0 | 1.0 |
| SuperQ-650S | | 0.5-1.5 | 2.0 | |
| QAE-550C | | 0.5-0.8 | 1.0 | |
| SP-650S | | 0.5-1.5 | 2.0 | |
| SP-550C | | 0.5-1.5 | 2.0 | |
| CM-650S | | 0.5-1.5 | 2.0 | |
| Butyl-650S | | 0.5-1.5 | 2.0 | |
| Phenyl-650S | | 0.5-0.8 | 1.0 | |
| Ether-650S | | 0.5-0.8 | 1.0 | |

備考：これらの流速は，通常の緩衝液又はそれに近い粘性をもつ水溶液溶媒での使用条件です．最大圧力とは，最大圧力損失ではなく，カラムから液漏れが発生しない最大圧力です．

## 7. 試料溶液の調製

### 7-1　試料の調製

試料溶液は溶離液を用いて，できるだけ注入直前に調製してください．

### 7-2　試料溶液中に不溶物，ゲル分がある場合

マイクロポアフィルター（当社製マイショリディスクなど）によるろ過精製及び遠心分離を必ず行ってください．肉眼で見ることができなくても，不溶解成分が存在する可能性があります．

### 7-3　溶離液の組成

試料液の塩濃度，pH などはできるだけ溶離液に合わせてください．試料注入量が多い場合は特に必要です．

グラジエント溶出を行う場合は，できるだけ初期溶離液に合わせてください．また，溶離液と混合することによって，不溶性物質を生成するような試料は，注入できませんのでご注意ください．

## 8. 理論段数，非対称係数の測定

### 8-1　測定条件

カラムの理論段数，非対称係数及び測定条件は，検査票（INSPECTION DATA）記載のとおりです．

### 8-2　理論段数計算法
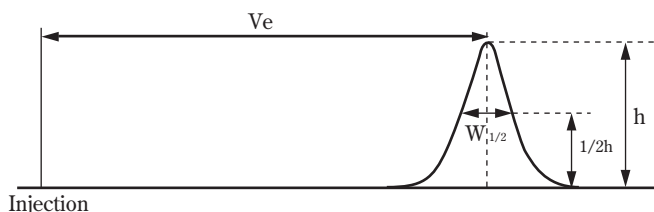
図 2　理論段数計算法

カラムの理論段数は，半値幅法によって計算を行っており，カラム当たりの段数で表示してあります．

$$N=5.54\times\left(\frac{Ve}{W_{1/2}}\right)^2$$

| | |
|---|---|
| Ve | ：溶出時間（min） |
| $W_{1/2}$ | ：ピーク半値幅（min） |
| h | ：ピーク高さ |
| N | ：カラム当たりの理論段数 |

### 8-3　非対称係数（As）計算法
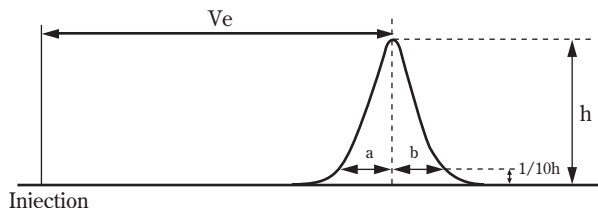
図３　非対称係数計算法

カラムの非対称係数は，1/10 高さ法によって計算しています．

$$As = b/a$$

### 8-4　理論段数及び非対称係数への測定条件の影響

カラムの検定は，できるだけデッドボリュームを小さくした当社製 HLC 装置で測定しております．

デッドボリュームの大きい装置を使用した場合，又は注入量を多くした場合は，規格値よりも低い理論段数，大きい非対称係数を示すことがありますのでご注意ください．

## 9.　トラブル発生時の処置法

トラブルが発生したときには以下の手順に従って確認し，適切な処置を行ってください．処置が適切であれば元通りに近い性能に回復できることもありますが，カラムの寿命，不可逆吸着物質及び気泡の混入，乾燥，凍結などが原因の場合には，再生が難しいのでカラムの取扱いには十分な注意を払ってください．

正常なカラムでもカラム内のゲルにひび割れがあるように見えることがあります．理論段数の測定を行って異常がなければ，性能的には全く問題ありません．

### 9-1　分離能が急激に低下した場合

8 項を参考にカラムの理論段数を測定してください．ピーク形状が正常で，理論段数に変化がなければ試料に問題があると思われますので新しく試料を調製してください．もし，ピーク形状が異常であれば，カラムの性能低下と考えられます．

カラムの性能低下の場合

（カラムの分離能を急激に低下させる原因としては，入口側カラムエンドへのごみなどのつまり及びカラム入口側でのすき間の発生（トップオフ）が考えられます．）

①ごみなどの除去は次の処置を行ってください．

　入口側カラムエンドにつまったごみなどは逆洗により押し出します．ポンプ出口配管に出口側カラムエンドを接続し，通常の使用流速（**表 1** に示す最大圧力以下）で送液します．しばらく通液した後，再度理論段数の測定を行ってください．

②トップオフの修復

　急激な加圧又は粘度変化，最高流速以上の流速がかかった場合には，トップオフを生じることがあります．

　この場合，理論段数の低下が極端に大きくなり，標準試料（単分散）ピークの形が大きくテーリングしたピークが 2 つに割れたりします．このときは入口側カラムエンドを取りはずしてゲル面を見てください．

　すき間が大きく空いていたらそのカラムは再生不能です．すき間が大きくない場合には同じ種類のゲルをすき間につめてカラムエンドを取り付け，**4－5** 項を参考にして気泡を取り除き，再び理論段数を測定してください．つめるゲルは，当社から販売しているトヨパールの該当するグレード，粒子径のものを使用してください．理論段数の回復が十分でない場合は，再び，入口側カラムエンドを取りはずし，すき間があればゲルを補充してもう一度理論段数を測定してください．すき間を埋めても理論段数に変化が見られない場合，又はカラムエンドを取りはずしたときにすき間が生じていない場合には，そのカラムは再生不能です．

### 9－2　使用中に試料が吸着して溶出しないか，又は溶出がいちじるしく遅れる場合

　長時間繰り返して測定しているうちに，溶出挙動がいちじるしく変化する場合がありますが，このような現象は，試料中の微量吸着成分が充てん剤表面に蓄積し表面状態が変化したために起こるものと考えられます．このような場合，性質の異なる溶媒で洗浄することにより分離能が回復することがあります．

　つぎに，洗浄の代表例を示します．

　1．0.1 ～ 0.2 mol/L　NaOH 水溶液
　2．20 ～ 40 %酢酸水溶液
　3．水溶性有機溶媒を添加した溶離液
　4．尿素，中性界面活性剤を添加した溶離液

　これらの方法を 1．より順番に行い，各段階でカラムを確認してください．
通常の吸着物質は，1．2．で洗浄できるはずです．

## 10.　品質規格及び保証

### 10－1　検査票（INSPECTION DATA）

　おのおののカラムの検定結果は検査票に記載のとおりです．

　このうち，理論段数はカラム当たりの理論段数で，圧力は検定流速での圧力を表示してあります．検定条件は以下に述べます．

### 10－1－1　検定溶媒及び出荷時溶媒

イオン交換水

### 10－1－2　検定流速

1.0 mL/min

### 10－1－3　検定試料及び濃度

1％アセトン

### 10－1－4　試料量

20 μL

### 10－1－5　検出器

装　　置：紫外可視検出器

検出波長：254 nm

### 10－1－6　測定温度

室温（25 ℃）

## 10－2　品質規格

TOYOPEARLPAK®（ガラスカラム）は以下の規格で出荷されております.

**表２　品質規格**

| 品　番 | 品　　　　名 | カラムサイズ (mmID)×(cm) | 理論段数 (TP/Column) | 非対称係数 |
|---|---|---|---|---|
| 0018141 | DEAE-TOYOPEARLPAK® 650S | 8.0×7.5 | ≧550 | 0.70－1.40 |
| 0018143 | SuperQ-TOYOPEARLPAK® 650S | 8.0×7.5 | ≧400 | 0.70－1.40 |
| 0018142 | QAE-TOYOPEARLPAK® 550C | 8.0×7.5 | ≧150 | 0.70－1.40 |
| 0018145 | SP-TOYOPEARLPAK® 650S | 8.0×7.5 | ≧550 | 0.70－1.40 |
| 0018146 | SP-TOYOPEARLPAK® 550C | 8.0×7.5 | ≧150 | 0.70－1.40 |
| 0018144 | CM-TOYOPEARLPAK® 650S | 8.0×7.5 | ≧550 | 0.70－1.40 |
| 0018147 | Butyl-TOYOPEARLPAK® 650S | 8.0×7.5 | ≧550 | 0.70－1.40 |
| 0018148 | Phenyl-TOYOPEARLPAK® 650S | 8.0×7.5 | ≧550 | 0.70－1.40 |
| 0018149 | Ether-TOYOPEARLPAK® 650S | 8.0×7.5 | ≧550 | 0.70－1.40 |

### 10－3　保証

①現品到着後，検査票並びにこの取扱説明書に記載の条件で，カラムの理論段数及び非対称係数を確認してください．当社の責任で規格値をはずれている場合には良品と交換いたします．
②輸送中の事故などで，カラムに破損が見られる場合には良品と交換いたします．
③上記，品質不良につきましては，現品到着後，2 週間以内にご連絡ください．
2 週間を過ぎた場合は良品としてお受け取りいただいたものとみなします．
④カラムの寿命については，保証の対象外とします．
⑤商品の仕様は，改良のため予告なく変更することがあります．

## 11．おわりに

この取扱説明書の内容に関して，ご不明な点又はご質問がありましたら巻末の連絡先までご連絡ください．

以下の名称は日本国及びその他の国における東ソー株式会社の登録商標です.

HLC, TSK-GEL, TSKgel, BioAssist, Enantio

エンバイロパック/Enviropak, トヨパール/TOYOPEARL, ToyoScreen

トヨパールメガキャップ/TOYOPEARL MegaCap

トヨパールパック/TOYOPEARLPAK, TOYOPAK

東ソー株式会社　バイオサイエンス事業部

東 京 本 社　営　業　部　☎(03)5427−5180　〒105-8623　東 京 都 港 区 芝 3 − 8 − 2

大 阪 支 店　バイオサイエンスG　☎(06)6209−1948　〒541-0043　大阪市中央区高麗橋4−4−9

名古屋支店　バイオサイエンスG　☎(052)211−5730　〒460-0003　名古屋市中区錦1−17−13

カスタマーサポートセンター　☎(0120)17−1200　〒252-1123　神奈川県綾瀬市早川2743−1

Printed in Japan

T0907-100